



Cryptococcus neoformans肺感染におけるCARD9依存 的感染防御機序の解析

著者	山本 秀輝
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第15726号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58402

学 位 論 文 要 約

博士論文題目 Cryptococcus neoformans 肺感染における CARD9 依存的感染防御機序の解析

東北大学大学院医学系研究科 保健学 専攻

基礎検査医科学 領域

氏名 山本 秀輝

【目 的】*Cryptococcus neoformans* は細胞性免疫低下宿主に重篤な髄膜脳炎を引き起こす日和見真菌である。*C. neoformans* に対する宿主防御免疫誘導においては、受容体による真菌構成成分の認識が重要であり、この受容体の一つとして多糖を認識する C 型レクチン受容体 (CLRs) が知られている。*C. neoformans* はその莢膜および細胞壁に豊富な多糖を含有する真菌であるため、CLRs が *C. neoformans* 感染防御に深く関与していると考えられる。これまでに私の研究グループは、Dectin-1 および Dectin-2 が *C. neoformans* 感染防御に必須ではないことを報告している。一方で、他の CLRs が感染防御に関与している可能性が考えられるため、私は CLRs において Toll 様受容体 (TLRs) 下流のシグナル分子である MyD88 に相当するアダプター分子である CARD9 に注目した。CARD9 は CLRs によって開始されるシグナル伝達において、NF- κ B 活性化を介したサイトカイン産生や共刺激分子発現を誘導に必須の細胞内分子である。本研究では、*C. neoformans* 感染における宿主免疫応答と真菌排除における CARD9 の影響を検討し、CLRs の関与について解析を行った。

【方 法】野生型 (WT) マウス、CARD9 欠損 (KO) マウス、および一部の実験において IL-17AKO マウスを用い、*C. neoformans* をマウスに経気道的に接種した。感染経過の解析として、14 日後の肺内生菌数および肺重量/体重比測定、病理学的解析を試みた。感染後の各タイムポイントにおける肺内 IFN- γ 濃度を測定し、自然免疫応答の解析として感染 3 日後の肺内各リンパ球サブセットにおける IFN- γ 発現、肺内ケモカイン発現を解析した。*In vitro* 実験では骨髄由来樹状細胞 (BM-DCs) を *C. neoformans* で刺激し、BM-DCs におけるケモカイン発現を測定した。また獲得免疫応答の解析として感染 7 日後の所属リンパ節細胞を採取し、抗原再刺激後の培養上清中の IFN- γ 、IL-17A 濃度を測定した。

【結 果】1) 肺重量/体重比および肺内生菌数は WT マウスと比較して CARD9KO マウスで有意に増加した。肺病理像では CARD9KO マウスで乏しい肉芽腫反応を伴う肺腔内での著明な菌の増加、および好中球の顕著な浸潤が観察された。2) IFN- γ の経時的変化は WT マウスで感染 3 日後に産生のピークを迎えたが、CARD9KO マウスではこの IFN- γ 産生が有意に低下した。3) 感染 3 日後の肺には IFN- γ 発現 NK 細胞および CD44^{bright+} memory-phenotype T 細胞が集積するが、これは CARD9KO マウスで顕著に減少した。4) 感染 3 日後の肺内 CCL4、CCL5、CXCL9、CXCL10 発現が WT マウスと比較して CARD9KO マウスで有意に減少した。*In vitro* 実験においては、CCL3、CCL4 発現が CARD9KO マウスで有意に低下した。5) 感染 3 日後の肺において IL-12p35 発現は WT マウス、CARD9KO マウスともにほぼ同等の発現レベルであったが、TGF- β および IL-23p19 発現は CARD9KO マウスで有意に低下した。また、感染 7 日後の所属リンパ節細胞の抗原再刺激では、IFN- γ 産生が WT マウス、CARD9KO マウス両群間で同等であったが、IL-17A 産生は CARD9KO マウスで消失した。6) 感染 14 日後の IL-17AKO マウスにおける肺内生菌数は WT マウスと比較して増加せず、むしろ有意に減少した。

【結 論】今回の結果から、CARD9 シグナルが *C. neoformans* 感染防御に非常に重要な役割を担っており、このシグナル経路は Th1 細胞分化誘導よりは自然免疫における IFN- γ 産生細胞の肺への集積を促進していることが示唆された。本研究は、*C. neoformans* 感染の病原メカニズム解明に重要な意義があり、*C. neoformans* 感染に対する宿主免疫応答機構における重要な基盤情報が得られた。